

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

No

59

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Henri ZAEPPFEL

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Né à Montreuil-sous-Bois (Seine), le 19 Août 1908

MISE AU POINT

D'UNE

MÉDICATION HÉMOPOIÉTIQUE
NOUVELLE

*Les Extraits globulaires irradiés
associés au Caséinate de fer et au Caséinate de cuivre*

Président : M. TANON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Henri ZAEPPFEL

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Né à Montreuil-sous-Bois (Seine), le 19 Août 1908

MISE AU POINT

D'UNE

MÉDICATION HÉMOPOIÉTIQUE
NOUVELLE

*Les Extraits globulaires irradiés
associés au Caséinate de fer et au Caséinate de cuivre*

Président : M. TANON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1935

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	LÉON BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Anatomie pathologique	CHEVASSU.
Histologie.....	ROUSSY.
Pharmacologie et matière médicale	CHAMPY.
Thérapeutique	TIFFENEAU.
Hygiène et médecine préventive	LOEPER.
Médecine légale.....	TANON.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BALTHAZARD.
Pathologie expérimentale et comparée.....	LAIGNEL-LAVASTINE.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	FIESSINGER.
	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	BEZANÇON.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale .	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale.....	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophthalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements.....	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	PROUST.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	N...
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire	MULON.
	OLIVIER.
	VERNE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BÉNARD (Henri) . Pathologie médicale.
 BERNARD Étienne. Pathologie médicale.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD..... Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER Pathologie médicale.
 DOGNON..... Physique.
 FEY Urologie.
 GALLIARD..... Parasitologie.
 GASTINEL..... Bactériologie.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
 chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD..... Histologie.
 HAGUENAU Pathologie médicale.
 HALPHEN..... Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBÉ (Henri) ... Chimie biologique.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUÉJOUL ... Obstétrique.
 LAROCHE (Guy) . Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LÉVY.... Pharmacologie.
 LÉVY-VALENSI .. Neurologie et Psychiatrie
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET... Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING..... Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS Pathologie chirurgicale.
 PIÉDELIÈVRE... Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHT Physiologie.
 SANNIÉ..... Chimie biologique.
 SÈNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
 TROISIER Pathologie expérimentale
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.

MM.

LEROUX..... Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
 ZIMMERN..... Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM.	
ABRAMI	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
ALAJOUANINE ..		BROCQ.....	
AUBERTIN		CADENAT.....	
BRULÉ		GATELLIER	
CHABROL		HEITZ-BOYER ...	
CHIRAY		MOCQUOT	
DONZELOT		MOURE	
DUVOIR.....		QUENU	
HARVIER.....		SCHWARTZ	
LIAN		VELTER	
PASTEUR - VALLERY- RADOT			
SÉZARY			
MM.			
ECALLE	} Clinique obstétricale.		
GUÉNIOT			
LE LORIER.....			
LÉVY-SOLAL			
METZGER			

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR TANON

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Paris
Officier de la Légion d'Honneur

*Qui a bien voulu nous faire le grand Honneur
d'accepter la présidence de cette Thèse.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

MEIS ET AMICIS

INTRODUCTION

Le traitement des syndromes anémiques a, depuis quelques années, réalisé des progrès considérables avec l'apparition des hémopoïétiques biologiques.

La médication martiale qui était autrefois le seul traitement anti-anémique a tout naturellement inspiré la thérapeutique par l'hémoglobine, composé ferrugineux qui a semblé pendant longtemps la forme la plus logique pour administrer le fer dissimulé.

Les travaux de WHIPPLE sur l'action hémopoïétique du foie et des extraits du foie, ceux de CASTLE sur la muqueuse stomacale ont changé complètement les conceptions anciennes en matière de régénération sanguine. Les extraits biologiques ont alors complètement détrôné les préparations ferrugineuses qui ne méritaient pas cette défaveur.

Les travaux de FONTES et THIVOLLE sur les acides aminés hématogènes, sur le rôle du cuivre, sur l'assimilation du fer ont permis, par une large expérimentation, de préciser le rôle qui revient à ces éléments dans l'hématopoïèse ; leurs travaux et ceux de SEYDERHELM sur les extraits globulaires irradiés ont

servi de base à ce travail et ont permis d'arriver à la conception d'un hémopoïétique idéal. Nos modestes expérimentations n'ont été que le prolongement logique de la synthèse des travaux de ces auteurs auxquels nous serons, à chaque page, obligés de nous reporter.

I

ÉTUDE THÉORIQUE D'UNE NOUVELLE
MÉDICATION HÉMOPOIÉTIQUE

L'HÉMOGLOBINE

L'hémoglobine fut le premier produit biologique employé comme hémopoïétique ; cette application résultait directement de la médication martiale classique.

L'idée d'administrer du fer contre l'anémie amenait logiquement à chercher à fournir ce métal sous la forme même sous laquelle il se trouve dans l'organisme. Le sang en nature et l'hémoglobine étaient évidemment l'aboutissant de ce raisonnement. Pendant de longues années cette médication qui se défendait plus par la théorie que par les résultats cliniques et expérimentaux connut la faveur.

Les travaux récents et notamment les expériences rigoureuses et logiques de FONTES et THIVOLLE ont donné le coup de grâce à l'hémoglobine hémopoïétique et véhicule de fer assimilable.

« L'hémoglobine n'a pratiquement aucune valeur en ce qui concerne la thérapeutique martiale. » Ils sont arrivés à cette conviction après avoir minutieusement étudié les formes sous lesquelles le fer doit être obligatoirement administré sous peine de ne pas

être assimilé, nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir sur cet important sujet.

Disons dès maintenant que l'hémoglobine, matière albuminoïde, est très difficilement digestible par le suc gastrique et que le fer qu'elle contient ne parvient pas dans le duodénum à l'état ionisé indispensable à son assimilation. Ce point est très important, toute la suite de ce travail repose en effet sur la préparation qu'il est indispensable de faire subir préalablement à l'hémoglobine pour en faire un hémopoïétique incomparable et sûr.

LE SÉRUM HÉMOPOIÉTIQUE

CARNOT et M^{lle} DEFLANDRE ont démontré que le sérum des animaux anémiés par des spoliations sanguines expérimentales jouit de la propriété d'exciter l'hématopoïèse. Sur ce principe ont été réalisées plusieurs préparations incontestablement actives mais qui déclanchaient l'hématopoïèse sans apporter à l'organisme les matériaux nécessaires à cette fonction. Si les réserves de fer étaient intactes, tout allait bien ; dans le cas contraire les organes hémapoïétiques s'épuisaient à fonctionner à vide et la médication allait à l'encontre du but cherché. Comparativement aux médications biologiques récentes le sérum hémopoïétique, ainsi que nous nous en sommes assurés expérimentalement, fait assez pauvre figure.

Ajoutons les inconvénients d'une médication sérique, toujours à craindre même *per os* chez des sujets sensibilisés. Les accidents sériques provoqués par ces sérums sont nombreux, mais heureusement peu graves.

Jusqu'à ces dernières années le sérum hémopoïé-

tique représentait le meilleur agent hémopoïétique connu ; des découvertes récentes ont ouvert la voie à des produits autrement intéressants et d'une efficacité absolument incontestable.

LES EXTRAITS DE FOIE

WHIPPLE, HOOPER et ROBSCHÉIT, ROBBINS publiaient en 1920 différents travaux ayant trait aux régimes propres à amener une régénération sanguine rapide chez les animaux (chiens) préalablement rendus anémiques par saignées répétées. Nous ne pouvons entrer ici dans le détail des expériences ni énumérer les différents aliments étudiés par WHIPPLE et ses collaborateurs. Signalons seulement que le foie leur est apparu comme l'aliment le plus apte à provoquer la régénération sanguine.

MINOT, MURPHY, FITZ et MUNROE appliquaient en 1926 la méthode de WHIPPLE en clinique et obtinrent des résultats remarquables, si bien que cette thérapeutique connut dans le monde entier une faveur rapide.

Toutefois une difficulté surgit : WHIPPLE admet que la ration quotidienne de foie frais nécessaire à un chien de 10 kilogrammes pour stimuler convenablement sa régénération globulaire est de 160 à 300 grammes, chez l'homme il faut au moins 300 à 500 grammes de foie frais pour obtenir un bon résultat dans les anémies aiguës, quantité qui peut être

ramenée à 150-200 grammes dans les anémies secondaires. Une telle quantité, outre le dégoût qu'elle provoque souvent n'est pas sans inconvénient chez certains sujets en raison de la proportion élevée de protéines et de lipoides qu'elle introduit dans l'organisme.

GANSSLEN d'une part, COHN et MINOT d'autre part cherchèrent donc à extraire le principe antianémique isolé et ils y parvinrent après un examen méthodique des divers produits d'extraction. Ils obtinrent ainsi cet extrait hémopoïétique de foie désalbuminé et délipoidé qui s'est révélé surtout efficace dans l'anémie de BIERMER dont il constitue aujourd'hui la médication classique.

Cet extrait hémopoïétique de foie constituait jusqu'à maintenant le remède le plus puissant que nous connaissions de la plupart des anémies. Son emploi est très répandu et les résultats obtenus avec les extraits de bonne qualité sont remarquables. On ne peut faire qu'un reproche à cette thérapeutique c'est son prix extrêmement élevé, prohibitif même pour certains malades. Ce prix est lié à celui de la matière première de bonne qualité (foie frais) et n'est guère susceptible d'être abaissé.

LES EXTRAITS DE MUQUEUSE GASTRIQUE

L'anémie pernicieuse s'accompagne toujours d'achylie ; cette constatation poussa CASTLE à rechercher si les parois gastriques ne secrétaient pas, outre les éléments du suc gastrique, une substance à action hémopoïétique qui ferait défaut en cas d'anémie de BIERMER.

Expérimentalement CASTLE reconnut que la viande laissée en contact avec le suc gastrique acquiert des propriétés anti-anémiques facilement mises en évidence.

STURGIS et ISAAC entreprirent des essais cliniques avec les parois gastriques elles-mêmes, dégraissées. La conclusion de tous les expérimentateurs est formelle : les parois gastriques à l'état frais ou à l'état de poudre d'organes desséchés ont des propriétés hémopoïétiques nettes à dose relativement faible (40 à 80 grammes, soit une à deux muqueuses d'estomac de porc).

Certains auteurs ont obtenu des résultats avec la muqueuse seule, d'autres avec des produits de la digestion gastrique, d'autres enfin avec des portions

de muqueuse (antre pylorique) qui ne secrètent pas de pepsine.

La question, est, on le voit, assez complexe et la méthode de CASTLE n'a pas connu la vogue de celle de WHIPPLE malgré le prix moins élevé du traitement ; il est vraisemblable d'attribuer cette défaveur à une efficacité moindre.

LES ACIDES AMINÉS HÉMATOGÈNES

FONTES et THIVOLLE ont, en 1930, émis une hypothèse que les faits ont, en partie, confirmée :

Dans la maladie de BIERMER, disent ces auteurs, l'achlorhydrie et l'achylie gastrique sont constantes et entraînent la pullulation des germes dans le tube digestif. Le début de la digestion des matières protéiques étant ainsi supprimé, les sucs pancréatique et intestinal auront évidemment du mal à accomplir complètement leurs fonctions ; la digestion des albuminoïdes s'arrêtera au stade des gros polypeptides, d'absorption malaisée, au lieu d'aboutir aux acides aminés comme il est normal. Une carence en acides aminés non indispensables à l'organisme n'a que peu d'importance ; mais si les acides aminés à noyaux non synthétisables (comme le tryptophane et l'histidine) sont déficients, il en résultera une perte de poids et une baisse des valeurs hématologiques. En outre, le tryptophane et l'histidine peuvent être également détruits par les bactéries intestinales.

Au cours de leurs expérimentations FONTES et THIVOLLE se sont attachés à vérifier ces points ; ils ont même prouvé que l'extrait hémopoïétique de

foie n'agit que pour autant qu'il contient une proportion relativement élevée de tryptophane et d'histidine.

Nous reviendrons d'ailleurs à propos de l'extrait globulaire irradié sur les travaux de ces auteurs concernant les acides aminés hématogènes. Notons toutefois que ces substances ne sont nullement toxiques, que les injections sous-cutanées sont remarquablement tolérées et que les doses quotidiennes de 1 gr. 10 de tryptophane et de 0 gr. 20 d'histidine ont permis d'enregistrer des succès remarquables.

Mais ici encore intervient la question du coût d'un traitement. Or ce coût est en réalité assez élevé puisqu'il s'agit d'injections et qu'en outre les produits purifiés nécessaires à ces injections ont subi des manipulations assez compliquées.

C'est pour cette raison que la méthode de FONTES et THIVOLLE n'a pas connu le développement que sa haute efficacité aurait dû lui assurer.

UN PRODUIT A ACTION ANTI-ANÉMIQUE ACTIVÉ PAR LES RAYONS ULTRA-VIOLETS, EXISTANT DANS LE SANG.

Sous ce titre SEYDERHELM (de Francfort s / M.) a publié dans la *Klinische Wochenschrift* du 2 avril 1932 un travail extrêmement intéressant dont nous allons donner une analyse détaillée et qui sert de point de départ à nos propres expériences.

Les travaux de GURWITSCH et RAJEWSKY avaient démontré que le sang d'un individu sain émet des rayons mitogénétiques, mais que ce rayonnement n'existe pas chez des sujets atteints de tuberculose, de septicémie, de cancer ou d'anémie pernicieuse. On écrit d'autre part que le rayonnement mitogénétique se place dans la gamme des radiations, dans la région des rayons ultra-violet.

SEYDERHELM s'est demandé alors quelle influence une irradiation ultra-violette pouvait avoir sur le sang d'un organisme sain ou d'un organisme malade et s'est posé les questions suivantes :

1° Qu'arrive-t-il si l'on prend du sang à la carotide d'un chien, que l'on fasse passer ce sang dans une spirale de quartz exposée à un rayonnement ultra-

violet et que par ce moyen on irradie tout le sang de l'organisme pour le reconduire après dans la veine jugulaire ?

2^o Est-ce que l'anémie expérimentale par la saponine est influencée par cette irradiation du sang circulant ?

SEYDERHELM réalisa donc des expériences pour vérifier ces points :

Sur un chien narcosé et dont le sang avait été rendu incoagulable par addition d'un produit spécial, il aboucha la carotide et la jugulaire à chacune des extrémités d'un tube de quartz en forme de spirale. Ce tube était placé devant la fenêtre d'une lampe de Kromayer. L'irradiation durait plusieurs heures. Pendant ce temps on contrôlait régulièrement : température, pouls, respiration, pression sanguine, éléments figurés du sang, et, avant et après l'expérience, la glycémie, la calcémie, la cholestérinémie et l'urécémie.

Après plusieurs expériences qui durèrent de 2 à 5 heures SEYDERHELM put conclure que l'irradiation du sang n'amenait aucun changement dans la composition de celui-ci : le nombre des érythrocytes était tantôt augmenté, tantôt diminué, de même le taux d'hémoglobine. La numération des globules blancs, la formule leucocytaire étaient inchangées. Il n'y avait pas trace d'hémolyse par le sérum.

L'examen des organes d'un animal sacrifié ne révéla aucune anomalie macroscopique et microscopique.

Ceci posé, l'auteur aborda sa 2^e question et, pendant l'irradiation du sang circulant il injecta à un chien, dans la veine fémorale, une solution de saponine à 2 pour 1.000. Il s'aperçut que, dans ces conditions, le développement de l'anémie par la saponine ne se produisait pas. L'expérience fut renouvelée maintes fois avec le même résultat.

Dans une autre série d'expériences SEYDERHELM préleva du sang à des chiens, et irradiia « in vitro » ce sang défibriné ; il injecta ce sang irradié à d'autres animaux et constata qu'il les rendait ainsi également réfractaires à l'action hémolysante de la saponine. L'expérience réussissait également lorsque le sang du chien n^o 1 avait été irradié « in vivo » suivant la première technique décrite et injecté au chien n^o 2. L'action anti-hémolytique se transmettait très facilement d'un animal à l'autre.

En pratiquant l'injection de saponine avant celle de sang irradié, SEYDERHELM s'aperçut que le sang irradié avait non seulement pour effet d'empêcher l'anémie saponinique, mais encore de provoquer une rapide régénération des globules rouges en cas d'anémie déjà organisée.

25 à 30 minutes après l'injection de sang irradié apparaissent dans le sang de nombreuses formes jeunes provenant de la moëlle osseuse et qui viennent remplacer les globules rouges détruits par la saponine.

On conçoit tout l'intérêt présenté par ces résultats et le champ énorme qu'ils ouvrent à l'expérimentation et à la clinique.

Toutefois il restait à trouver quelle substance est transformée par les radiations ultra-violettes et à saisir le mécanisme biologique qui fait apparaître dans le sang par simple irradiation une substance qui primitivement n'y existait pas.

SEYDERHELM entreprit alors une série d'expériences en irradiant séparément le sérum, puis les globules rouges en suspension dans un milieu isotonique. Le sérum irradié se révèle sans aucun pouvoir anti-anémique ; par contre l'injection de globules rouges lavés et irradiés reproduisit tous les phénomènes obtenus par l'injection du sang total irradié.

Après de nombreuses recherches Seyderhelm peut préciser que la substance anti-anémique activable par les rayons ultra-violets est intimement liée au stroma des globules rouges des mammifères et de l'homme.

Restait à isoler ce principe anti-anémique activable. Seyderhelm prétend y être parvenu, mais reste d'une discrétion totale sur le mode d'extraction. Il dit simplement que par diverses manipulations les globules sont débarrassés de leur albumine et de toute substance pyritogène. Il obtient un liquide clair qui, irradié, possède le même pouvoir anti-hémolytique et anti-anémique que le sang total irradié.

D'après SEYDERHELM ce principe anti-anémique existerait normalement dans le sang en très petites quantités seulement ; après irradiation la proportion devient considérable.

SEYDERHELM, en collaboration avec HEIWEMANN

expérimenta en clinique l'extrait irradié qu'il avait mis au point.

Les résultats qu'il expose ont trait aux affections dans lesquelles le rayonnement mitogénique normal du sang est disparu : carcinome, tuberculose, anémie pernicieuse. Les résultats rapportés en bloc sont très encourageants : dans tous les cas la régénération globulaire a été considérable, en même temps que l'on pouvait noter un relèvement, souvent prodigieux, de l'état général.

Les auteurs rapportent également des cas d'amélioration considérable obtenus avec l'extrait globulaire irradié dans des cas de pneumonies septiques.

La médication s'est, dans tous les cas, révélée active contre l'anémie et a montré une action antitoxique évidente.

Malheureusement dans cette partie clinique de son travail, SEYDERHELM apporte beaucoup moins de précisions et de chiffres que dans la partie purement expérimentale. La faute en revient peut-être à son collaborateur clinicien HEIWEMANN, mais les résultats sont annoncés en bloc, sous une forme vague et aucun renseignement ne peut être retenu de ce chapitre qui aurait pu être si plein d'intérêt.

Tels sont les faits qui forment le point de départ de notre propre travail. Nous nous sommes donc attaché à réaliser un extrait globulaire désalbuminé, à l'irradier et à contrôler expérimentalement et cliniquement les résultats obtenus par l'administration « per os » de ce produit.

L'EXTRAIT GLOBULAIRE IRRADIÉ

La désalbumination totale des globules rouges peut être réalisée de plusieurs façons :

La chaleur, les acides, l'alcool, permettent avec des techniques appropriées d'obtenir des solutions complètement désalbuminées, mais qui ont le tort de ne plus rien contenir : leur densité indique une concentration très réduite, presque tous les constituants solubles ont été retenus par les albumines précipitées et il est pratiquement impossible de les en séparer.

Reste un second moyen : solubiliser les matières protéïques soit par la soude, soit par des ferments. Là encore des difficultés se présentent : l'hémoglobine est un des corps les plus difficiles à hydrolyser, nous avons vu d'ailleurs que c'est pour cette raison que l'activité thérapeutique de l'hémoglobine administrée « per os » est nulle au point de vue anti-anémique.

Nous avons pu cependant, en utilisant certains artifices (hémolyse préalable), en employant beaucoup d'eau et en faisant une digestion pancréatique prolongée, obtenir une solution de peptones d'héma-

ties contenant en outre tous les principes hydrosolubles des globules rouges. Malgré l'important résidu non digéré et malgré la quantité d'eau importante employée, cette solution totalement privée d'albumines a une densité de 1045 à 1048.

Elle peut d'ailleurs être concentrée dans le vide après irradiation et même évaporée à sec.

La solution parfaitement limpide est d'une couleur rouge brunâtre assez foncée, par opposition à l'extrait de SEYDERHELM qui est presque incolore.

Cette solution est ensuite irradiée à l'abri de l'air dans une cellule à fenêtre de quartz placée devant une lampe à vapeur de mercure refroidie par une ventilation forcée. Les premiers essais furent faits avec une lampe L. D. G. (DUFLOT) analogue comme intensité à la lampe de KROMAYER utilisée par SEYDERHELM. Mais étant donné les temps d'irradiation nécessaires d'après la publication de cet auteur (2 heures) il était indispensable de passer plusieurs fois le liquide pour obtenir une irradiation correcte. Or il s'agit d'un produit éminemment altérable comme tous les produits dérivés du sang et il est même nécessaire de prendre des précautions spéciales pour qu'il ne se produise pas d'altération pendant la digestion pancréatique prolongée. L'action bactéricide des rayons ultra-violets n'est pas suffisante, étant donné l'opacité optique du milieu, pour que l'on puisse compter sur une stérilisation efficace pendant l'irradiation. Il fallait donc réaliser, avec un appareillage puissant, une irradiation

suffisamment intense pour pouvoir être rapide. Une lampe puissante (35 ampères) avec cellules rapprochées et en séries (DUFLOT) fut mise à notre disposition pour ces essais et nous permit de les mener à bien. Le protéolysat globulaire irradié est ensuite dilué à 50 % dans la glycérine pour assurer sa conservation si l'on veut utiliser la forme liquide, ou bien il est concentré dans le vide à basse température et desséché complètement si l'on veut l'employer sous forme de poudre.

Nous nous sommes assuré par des essais que nous rapportons plus loin que la dessiccation à basse température n'enlève rien à l'activité thérapeutique du produit.

Nos premières expériences ont été, en effet, faites avec le produit liquide glyciné ; par la suite, nous avons envisagé de compléter l'action de ce produit en utilisant les ressources apportées récemment en matière de thérapeutique anti-anémique par les travaux de FONTES et THIVOLLE et à adjoindre le fer et le cuivre sous une forme ionisée ou facilement ionisable.

Cette forme étant réalisée par les caséinates qui sont insolubles, nous avons été amenés à réaliser également une poudre d'extrait globulaire irradié desséché, de manière à poursuivre nos expériences avec un mélange de poudre facile à administrer aux malades et se prêtant également bien à l'expérimentation sur l'animal sous forme de petites pilules faciles à faire absorber.

QUELQUES HYPOTHÈSES SUR LE MODE D'ACTION DE L'EXTRAIT GLOBULAIRE IRRADIÉ

SEYDERHELM ne donne aucune indication sur la nature et le mode d'action de sa substance hémopoïétique activable par les rayons ultra-violets. Il précise seulement que cette substance est liée au stroma des globules rouges.

Les moyens dont nous disposons ne nous ont pas encore permis de préciser la nature de cette substance ; nous nous proposons d'ailleurs de continuer nos recherches à ce sujet.

Toutefois la façon dont notre extrait globulaire est obtenu permet de faire quelques hypothèses sur la nature du principe actif.

Notre première opération est une protéolyse provoquée par la pancréatine : le résultat final est constitué par des peptones globulaires déjà en partie animés.

Quelle sera l'action des ultra-violets sur ces corps en solution ? BERTHELOT qui a étudié en détail divers mécanismes de l'action chimique des rayons ultra-violets a classé ainsi les réactions provoquées par ces radiations :

Réactions d'oxydation ;
Réactions de photosynthèse ;
Réactions de polymérisation ;
Réactions de photolyse.

Laquelle de ces réactions se passe au cours de l'irradiation de notre extrait globulaire ? D'après la composition du milieu, nous pensons qu'il s'agit plutôt d'une photolyse et que la presque totalité de nos peptones se transforment, sous l'influence de l'irradiation ultra-violette, en acides aminés.

Cette hypothèse, déjà en partie vérifiée, présente l'avantage de permettre, à l'aide de faits connus, d'expliquer l'action hémopoïétique extraordinaire du produit obtenu.

L'on sait que les albumines alimentaires sont disloquées sous l'action des ferments digestifs et que le terme ultime de cette protéolyse est constitué par les amino-acides. C'est à partir de cette matière première que l'organisme animal édifie les albumines spécifiques. En matière d'hématopoïèse, il est permis de penser qu'il en est de même : les globules dans l'organisme sont détruits (peut-être dans le poumon ?) et leurs déchets constituent la matière première avec laquelle les organes hémopoïétiques forgent de nouveaux globules ; bien plus ces déchets constituent aussi la force motrice car ils stimulent le fonctionnement des organes hémopoïétiques. Ces données ont été utilisées par FONTES et THIVOLLE comme point de départ de leur théorie des acides aminés hématogènes, théorie vérifiée par les faits.

L'hémoglobine peut se démembrer en hématine, pigment ferrugineux et en globine, matière protéique difficilement hydrolisable mais qui, désintégrée, donne 2 acides aminés spéciaux : le tryptophane et l'histidine.

FONTES et THIVOLLE ont montré que ces acides aminés sont indispensables à l'organisme pour que la fonction hémopoïétique puisse s'exercer : ils ont même pu établir leur relation pondérale entre tryptophane et histidine d'une part, hémoglobine de l'autre. Ils ont calculé que 1 gramme de tryptophane et 2 grammes d'histidine peuvent engendrer sensiblement 20 grammes d'hémoglobine.

Or les expériences ont prouvé que le résultat expérimental était sensiblement le rendement théorique.

La matière première est donc totalement utilisée et FONTES et THIVOLLE en concluent que les acides aminés hématogènes n'ont qu'un rôle d'apport et non un rôle d'excitant de l'hématopoïèse. Cependant, en même temps que l'organisme fait de l'hémoglobine, il fabrique aussi des globules rouges, il utilise certes les matériaux qui lui sont fournis, mais l'action stimulante est indéniable puisque le taux des globules monte ; il monte même encore lorsque le traitement est suspendu, alors que le taux d'hémoglobine régresse légèrement.

Dans notre extrait, les acides aminés hématogènes se trouvent en quantités très importantes et l'hématine également.

Dans l'extrait de SEYDERHELM et dans le sang irradié « in vivo » il y a vraisemblablement production d'acides aminés sous l'influence de l'irradiation prolongée ; mais seulement de petites quantités. Néanmoins l'expérience « in vivo » correspond à une véritable injection intra-veineuse de ces acides aminés — en ce qui concerne l'extrait les injections étaient effectivement intra-veineuses. L'action enregistrée semble bien dûe aux acides aminés et la régénération globulaire rapide prouve le pouvoir stimulant extraordinaire de ces substances.

FONTES et THIVOLLE utilisent la voie sous-cutanée.

Y a-t-il un empêchement à employer la voie digestive ? *A priori* nous ne voyons pas de contre-indication : les acides aminés ne sont pas altérés par les ferments digestifs.

D'ailleurs nos expériences ont prouvé la parfaite efficacité de notre extrait administré « per os ».

LE FER ANTI-ANÉMIQUE

La médication martiale qui a constitué pendant longtemps la seule thérapeutique anti-anémique ne couvre plus maintenant un domaine aussi étendu. Nous possédons aujourd'hui des stimulants efficaces de l'hématopoïèse et l'administration du fer ne se justifie plus que lorsque l'organisme manque de ce métal, c'est-à-dire principalement dans les anémies par hémorragie ou anémies secondaires et qui sont extrêmement fréquentes. L'intérêt du fer en tant que médication anti-anémique est donc certain.

Il est donc intéressant de rechercher sous quelle forme le fer doit être administré à l'organisme pour que ce métal soit assimilé et utilisé.

LINTZEL a prouvé par une élégante expérience que la totalité du fer ionisé dans l'estomac l'est sous forme ferreuse et que la combinaison de ces ions avec un complexe non ionisable équivaut à une carence martiale complète.

FONTES et THIVOLLE ont résumé ainsi l'état actuel de nos connaissances sur l'ionisation du fer dans l'estomac :

A. Une partie du fer alimentaire non ionisé est

ionisé sous l'influence du suc gastrique ($\text{H Cl} + \text{pepsine}$) ;

B. Ces ions fer sont rapidement transformés en ions ferreux et cette transformation est vraisemblablement totale.

Ces ions ferreux seuls seront assimilés, les composés organiques ferrugineux non ionisés seront éliminés en même temps que le fer usé par l'organisme et le fer ionisé qui n'aura pas été assimilé dans la zone acide du duodenum.

Dans la suite de leurs travaux FONTES et THIVOLLE montrent que :

1^o Les différentes formes de fer ionisées ou facilement ionisables sont retenues par l'organisme dans des proportions identiques ;

2^o Les différents composés dans lequel le fer est masqué à ses réactifs usuels, ne font que traverser l'organisme. L'hémoglobine est toute entière rejetée par les fèces. Le ferro-cyanure de potassium est absorbé par l'intestin, mais rejeté par l'urine ;

3^o L'adjonction à des composés absorbables de corps susceptibles de faire entrer l'ion fer dans un complexe désionisé (acides citrique, tartrique, malique, lactique donnés en excès) annihile l'absorption duodénale du fer.

En résumé: « L'ionisation commande l'absorption ».

FONTES et THIVOLLE ont étudié expérimentalement (chez le chien appauvri en fer par des saignées répétées) plusieurs composés ferrugineux répondant aux conditions requises : le perchlorure de fer,

le caséinate et le sulfocyanate ferrique. Nous ne voulons pas rapporter ici le détail de travaux considérables.

Tous ces composés sont soit ionisés, soit facilement ionisables, donc assimilés.

Nous avons adopté le caséinate de fer pour la raison qu'il ne possède pas la saveur désagréable des sels de fer courants ; il n'est pas agressif vis-à-vis de l'estomac ; il a tous les avantages du fer dissimulé et il n'en a pas le principal inconvénient puisqu'il est immédiatement ionisé dans l'estomac.

Le caséinate de fer correctement préparé est un produit de couleur rouille, sans toxicité, non hygroscopique, se conservant bien. Il est insoluble dans l'eau et sa saveur, peu marquée, n'est nullement ferrugineuse et rappelle plutôt le goût de la chapelure.

Il suffit de mettre dans un tube à essai un suc gastrique artificiel constitué d'acide chlorhydrique dilué et de pepsine et d'y laisser tomber un gramme de caséinate de fer pour se rendre compte de la facilité avec laquelle il se dissout : la caséine est peptonisée et libère le fer qui se combine à l'acide chlorhydrique. A partir de ce moment on retrouve sur cette solution toutes les réactions du fer minéral.

Le seul inconvénient est la variation de la teneur en fer de ce composé suivant le mode de préparation. FONTES et THIVOLLE donnent le chiffre de 3 % ; nous l'estimons pour notre part un peu faible. En modifiant légèrement leur technique de préparation

nous arrivons régulièrement à une teneur de 5 % en fer métal.

En ce qui concerne la posologie des composés ferrugineux, FONTES et THIVOLLE ont prouvé que pratiquement l'organisme humain peut assimiler cinq à dix centigrammes de fer métal par jour. La dose de 40 centigrammes constitue donc un plafond qu'il est inutile de dépasser en thérapeutique puisque le surplus est éliminé par les fèces en 48 heures.

On voit donc que deux grammes de caséinate de fer suffisent toujours pour les besoins de l'organisme, même en cas de carence martiale grave. Dans ce cas le traitement devra être poursuivi pendant très longtemps.

FONTES et THIVOLLE montrent par le calcul, qu'un sujet ayant un taux d'hémoglobine tombé à 50 % à la suite d'hémorragies répétées ne pourra, en aucun cas, élaborer plus de 4 gr. 2 d'hémoglobine par jour et qu'il lui faudra suivre le traitement pendant 90 jours pour pouvoir reconstituer les 375 grammes d'hémoglobine qui lui manquent. On voit donc quelle continuité est nécessaire dans ce genre de traitement et combien les progrès sont lents.

Quel que soit l'hémopoïétique employé, dans les anémies secondaires il faudra toujours administrer du fer et continuer cette thérapeutique pendant longtemps malgré le peu d'importance de l'amélioration constatée.

LE CUIVRE ANTI-ANÉMIQUE

Si le rôle du fer, métal de l'hémoglobine pigment circulatoire, est évident en matière d'hématopoïèse, celui du cuivre est, dès l'abord, plus imprévu.

Il convient toutefois de noter que le cuivre est le métal de l'hémocyanine, pigment respiratoire des mollusques et crustacés.

WADDEL, ELVEHJEM, STEENBOCK et HART publièrent en 1928 d'intéressantes expériences portant sur des jeunes rats au sevrage qui étaient soumis à un régime lacté exclusif. L'adjonction de fer au lait était impuissant à amener une régénération sanguine totale ; l'addition de cendres animales ou végétales provoquaient au contraire une exaltation de l'hématopoïèse à condition que ces cendres contiennent du cuivre. Une quantité de 0 mgr. 01 à 0 mg. 02 de cuivre métal est suffisante chez le rat pour guérir cette anémie de nutrition à condition, bien entendu, que le régime contienne du fer sous une forme absorbable.

Tous les autres corps étudiés par les auteurs sont restés sans action, à l'exception de l'arsenic qui a un pouvoir hémopoïétique faible et temporaire.

Depuis cette époque l'action hémopoïétique du cuivre a fait l'objet de nombreux travaux expérimentaux et cliniques ; toutefois le mécanisme de l'action même dans la régénération globulaire n'a pas encore été élucidé et nous en sommes réduits aux hypothèses.

GORTER, GRENDL et WEYERS estiment chez l'enfant sain la teneur en cuivre du sang total à 1 à 2 milligrammes par litre avec une moyenne de 1, 4 milligramme ; ils ont trouvé que chez les enfants anémiques le taux de la cuprémie était plus élevé. Il en est de même chez les animaux saignés. Pour expliquer ce fait les auteurs admettent qu'une mobilisation des réserves de cuivre est la condition indispensable d'une stimulation de l'hématopoïèse.

Pour FONTES et THIVOLLE le cuivre serait capable de prendre dans le foie la place du fer et de libérer ainsi une quantité équivalente de fer utilisable pour l'hématopoïèse.

Pour d'autres auteurs le cuivre aurait un rôle catalytique assez mal défini.

Quoiqu'il en soit et quel que soit le mécanisme de son action, le cuivre jouit d'une efficacité incontestable en matière d'hématopoïèse.

Nous ne pouvons mieux faire que citer la conclusion d'un mémoire de FONTES et THIVOLLE sur ce sujet :

« Chez le chien anémique, ayant épuisé ses réserves et maintenu à un régime constant qui ne lui permet pas de guérir son anémie, le cuivre ajouté

au fer (tous deux étant ingérés sous forme de caséïnes) améliore nettement le rendement en hématies et surtout en hémoglobine par rapport au traitement martial seul.

L'augmentation du rendement en hémoglobine globulaire est de 27 % pour la période thérapeutique (3 semaines) et de 68 % pour l'ensemble de la période thérapeutique et de la post période (6 semaines). L'introduction systématique du cuivre associé au fer (sous forme de caséinate) en thérapeutique humaine paraît souhaitable. »

On voit que ces auteurs ont adopté pour leurs essais le caséinate de cuivre, et cela pour les mêmes raisons qu'ils avaient choisi le caséinate de fer. Le cuivre ionisé pénètre dans l'organisme, tous les faits expérimentaux le prouvent. Or, le caséinate de cuivre, facilement ionisable, a l'avantage de masquer le goût désagréable du cuivre salin. Il présente les mêmes avantages que le caséinate de fer et peut être préparé facilement.

Le cuivre agit à très faible dose : quelques milligrammes par jour suffisent en thérapeutique humaine.

II

PARTIE EXPÉRIMENTALE ET RÉSULTATS CLINIQUES

MÉTHODES DE CONTRÔLE DE L'ACTIVITÉ D'UNE MÉDICATION HÉMOPOIÉTIQUE

Il semble *à priori* assez facile de se rendre compte de l'activité d'un produit à propriétés hémopoïétiques en réalisant chez l'animal une anémie expérimentale dont on observerait la réparation sous l'influence du produit à essayer.

En réalité le problème est extrêmement complexe. WHIPPLE et ses collaborateurs ont éprouvé des difficultés considérables lorsqu'ils ont voulu se rendre compte de l'activité des divers produits qu'ils extrayaient du foie.

I. — Anémie par saignées répétées. Dosage de l'Hémoglobine.

Cette méthode a été également utilisée par FONTES et THIVOLLE, elle consiste à maintenir des chiens à un taux d'hémoglobine égal à 60 ou 50 % de la normale par des saignées hebdomadaires. La quantité de sang que l'on est obligé de retirer chaque semaine pour maintenir le taux d'hémoglobine permettra de calculer exactement la quantité d'hémoglobine formée depuis la dernière saignée.

Cette méthode, sous une apparence de précision

rigoureuse, comporte des causes d'erreurs assez graves :

Elle néglige le facteur hémopoïétique constitué par les saignées fréquentes et qui est loin d'être négligeable.

Elle arrive à épuiser les réserves en fer de l'organisme et de ce fait la régénération de l'hémoglobine est freinée au bout d'un certain temps.

Enfin nous ne ferons que signaler les précautions méticuleuses qui doivent présider à ces essais pour éliminer les facteurs individuels et qui rendent cette méthode inapplicable dans la pratique.

II. — Anémie par saignées répétées. Numération des réticulocytes.

On sait que les réticulocytes (formes jeunes avec granulations en réseau) apparaissent lorsque la régénération globulaire est très intense. La crise réticulocytaire peut donc être, dans une certaine mesure, le reflet de l'activité hémopoïétique.

Il faut noter encore que la saignée elle-même, déterminant automatiquement une poussée de régénération hématique, produit par là même une crise réticulocytaire masquant en partie la réaction provoquée par l'agent thérapeutique à étudier.

On a donc essayé de réaliser des anémies sans saignée, en inoculant des parasites (*Bartonella Muris*) ou en injectant des substances hémolytiques. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette dernière technique.

Enfin on a proposé, chez le rat au sevrage, le

régime lacté absolu comme générateur d'anémie ; là encore il y a épuisement des réserves de fer de l'organisme et les résultats expérimentaux sont influencés par cette carence martiale.

III. — Anémie par saignées répétées. Numération des érythrocytes.

Cette méthode est aisément applicable, elle ne nécessite pas de coloration compliquée et est à la portée de tous les laboratoires ; elle comporte évidemment les inconvénients inhérents à la vertu hémopoïétique de la saignée elle-même. Pour différentes raisons que nous exposerons, c'est cette méthode que nous avons utilisée lors de nos expériences sur l'animal.

IV. — Anémie par une substance hémolytique.

Le type en est la saponine ou mieux la phénylhydrazine : ces substances déterminent une hémolyse assez intense et également une action toxique qui vient fausser les résultats. Avec la saponine notamment nous avons éprouvé de nombreux échecs par suite de la mort des animaux en expérience et nous avons dû recourir à une autre technique qui consistait à administrer préventivement la substance anti-anémique et à observer ensuite la réaction provoquée par l'injection de phénylhydrazine. Cette méthode donne des résultats rapides mais nécessite une grande expérience dans le maniement de l'agent hémolytique.

L'eau distillée en injections intra-veineuses ne nous a pas non plus permis les résultats que nous en attendions.

Quelles sont les conditions que doit réunir une anémie expérimentale pour que les résultats puissent être tenus comme corrects ?

1^o) Cette anémie doit être suffisamment intense, c'est-à-dire que le nombre des globules rouges doit être diminué d'environ 50 % par rapport au chiffre normal ;

2^o) Cette anémie doit être stable, c'est-à-dire que la régénération globulaire spontanée ne doit s'opérer que très lentement ;

3^o) Cette anémie doit être pure, c'est-à-dire qu'elle ne doit pas être provoquée par une action toxique dont on ne connaîtrait ni le degré, ni l'étendue. Les poisons globulaires toucheront toujours d'autres organes et les accidents toxiques fausseront les résultats.

Disons tout de suite que cette anémie expérimentale idéale est impossible à réaliser. Il est évident que les conditions 2 et 3 (stabilité et pureté) sont inconciliables puisqu'il faudrait que les organes hémapoïétiques fussent absolument intacts d'une part, et que d'autre part ils soient hors d'état de fonctionner spontanément.

Nous avons donc employé, faute de mieux, l'anémie par saignée, en nous entourant toutefois de précautions suffisantes pour réduire au minimum les causes d'erreur.

Nous avons toujours opéré avec un lot de témoins qui nous renseignaient exactement sur l'importance de la régénération spontanée : nous pouvions ainsi

- attribuer au produit irradié une valeur hémopoïétique égale à la différence entre la régénération observée par l'emploi de ce produit et la régénération spontanée. Cette méthode nous a donné des résultats assez constants et comparables entre eux.

D'autre part, une série d'expériences préparatoires nous a renseigné sur la valeur moyenne de la régénération spontanée par rapport au taux de la spoliation sanguine. Nous nous sommes ainsi aperçu qu'une anémie de 50 % (nombre des globules par rapport au nombre avant la saignée) se réparait assez lentement, mais qu'une anémie plus prononcée donnait lieu à des régénérations spontanées excessivement rapides.

Par exemple : un animal (lapin n° 42) du poids de 1 k. 700, 4.740.000 globules rouges a subi en 6 jours 3 saignées (ensemble 60 cc.) est tombé à 2.970.000 globules rouges, il subit une nouvelle saignée et ses globules rouges sont alors au taux de 1.450.000 (30 % de la valeur primitive) en 5 jours, sans traitement le taux des globules rouges est remonté à 2.900.000. Régénération spontanée extrêmement rapide par conséquent.

Nous nous sommes donc attachés à ne réaliser que des anémies de l'ordre de 50 % par rapport au taux globulaire normal.

Devant la difficulté de nous procurer des chiens en quantité suffisante, nous avons choisi, comme matériel expérimental le lapin. Une difficulté s'est alors présentée : malgré les affirmations contenues

dans les techniques publiées, il nous a presque toujours été impossible de retirer des quantités importantes de sang par ponction de la veine marginale de l'oreille : le diamètre réduit des aiguilles favorise une coagulation rapide et la thrombose empêche de pratiquer des saignées répétées.

Nous avons donc été amenés à mettre au point une technique qui nous a fait gagner beaucoup de temps malgré ses apparences un peu compliquées. Il s'agit en effet d'une petite opération donnant accès à la veine fémorale.

Voici en quoi consistent les temps de cette intervention :

1^o) Epilation et désinfection de la zone opératoire.

2^o) Incision de 3 centimètres à partir de l'arcade crurale et intéressant seulement les plans superficiels. Le lieu de l'incision est facilement repéré par les battements de l'artère fémorale.

3^o) Dénudation de la veine facilement visible, la saphène intense qui se trouve à ce niveau est également facilement accessible.

4^o) Ponction de la veine avec une aiguille d'un calibre suffisant. On retire à la seringue 20 à 30 centimètres cubes de sang qui est remplacé ensuite par une égale quantité de sérum isotonique ou mieux hypotonique.

5^o) Antisepsie de la plaie opératoire.

Suture des plans superficiels avec 2 agrafes Michel.
Antisepsie de la paroi.

Cette intervention est faite très facilement, sans

anesthésie, et les animaux n'en ressentent aucune suite fâcheuse.

Le remplacement du sang retiré par une égale quantité de sérum est indispensable pour éviter tout déséquilibre de l'hydraulique circulatoire.

Lorsque cette précaution n'est pas prise, les animaux sont hébétés et déséquilibrés et ne retrouvent leur état normal qu'après avoir bu copieusement.

La substitution du sérum hypotonique à 3 ‰ au sérum isotonique nous a paru retarder nettement la régénération spontanée. Quant à l'injection d'eau distillée elle est pratiquement inopérante : les animaux urinent abondamment pendant quelques heures, mais aucun effet hémolytique n'est constaté.

Dans d'autres séries d'expériences nous avons utilisé l'injection intraveineuse de saponine dans la veine marginale de l'oreille. Les désordres survenus dans nos séries en expérience nous ont fait renoncer à l'emploi de ce corps. Nous nous sommes alors adressés à la phénylhydrazine sous forme d'une solution alcoolique diluée et injectée à la dose de 0 gr. 02 par kilogramme d'animal. Nous exposerons plus loin le détail et le résultat de ces expériences qui, ainsi que nous l'avons dit, permettent un essai rapide (4 jours) des produits anti-anémiques.

Nous sommes certains que la méthode que nous avons employée est la plus simple et celle qui donne les résultats les plus rapides ; toutefois elle comporte un certain nombre de causes d'erreur ; nous pensons les avoir réduites au minimum par les soins que nous

avons apportés aux expériences et par la méthode que nous avons adoptée pour interpréter les résultats. En fait, 2 essais successifs opérés dans les mêmes conditions nous ont toujours donné les mêmes résultats.

Voici en quoi consiste cette méthode :

1^o) Expérience sur des lots assez importants.

2^o) Réalisation d'une anémie globulaire ne descendant pas au-dessous de 50 % du taux initial des globules rouges pour diminuer autant que possible la régénération spontanée provoquée par la saignée.

3^o) En ce qui concerne l'interprétation des résultats : nous faisons la moyenne des différents taux globulaires de chaque lot ; avant saignée, après saignée, et 8 jours après.

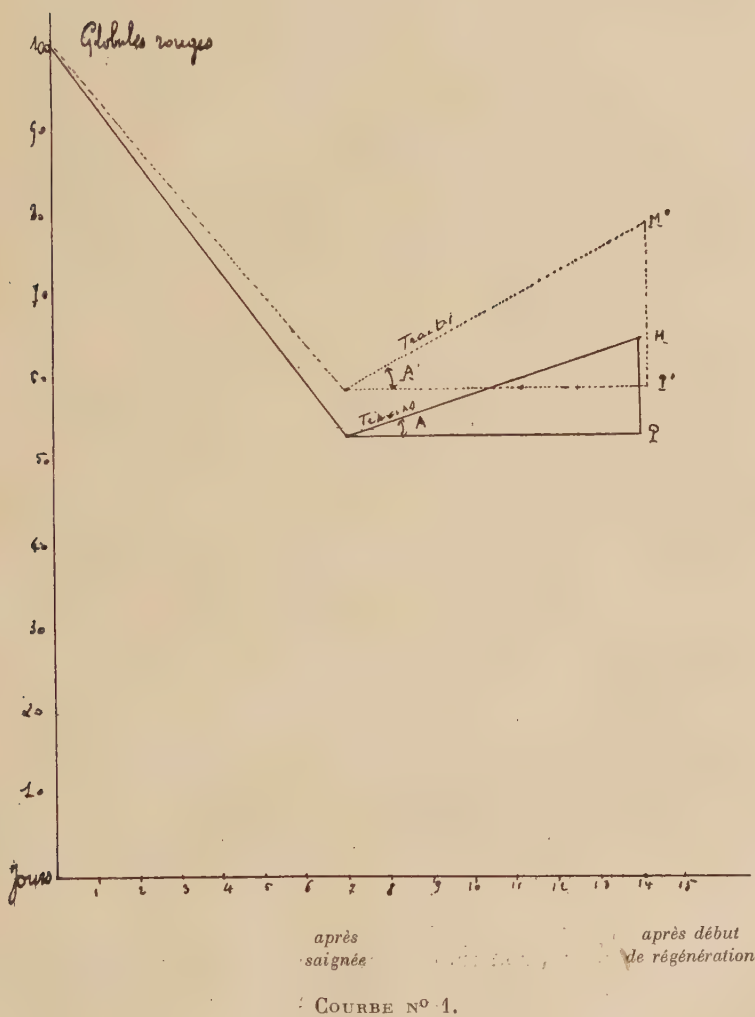
La moyenne des globules rouges avant saignée représente la valeur 100 ; par un calcul de proportions nous attribuons aux 2 autres moyennes (après saignée et après régénération) deux pourcentages qui indiquent par simple soustraction la proportion de la régénération globulaire par rapport au taux initial pris pour unité.

Exemple : Si avant saignée la moyenne des globules rouges d'un lot est de 6.000.000, ce chiffre correspond à 100, après saignée il est tombé à 3.000.000, soit 50.

Après début de régénération (au bout de 8 jours) il est passé à 4.500.000 soit 75.

Nous disons que la régénération est 75-50 soit 25 % par rapport au chiffre initial des globules rouges.

Si nous construisons la courbe de régénération



sanguine suivant cette formule, la rapidité de régénération sera mesurée par l'angle A que fait la courbe

avec l'axe des abscisses ou encore par le sinus MP de cet angle.

Dans le cas de 2 courbes se rapportant l'une au lot traité, l'autre au lot témoin, on aura 2 angles de valeurs différentes. La différence des 2 sinus de ces 2 angles mesurera exactement la régénération provoquée par la thérapeutique employée, en effet l'angle A du lot témoin répondra à la régénération spontanée, l'angle A' du lot traité montrera par contre l'importance de la régénération provoquée ajoutée à la régénération spontanée (Courbe n° 1).

La notation adoptée, rapportant les différents chiffres au taux globulaire avant expérience élimine les erreurs que provoquent les différences individuelles énormes : certains animaux ont un taux globulaire avant expérience aux environs de 5.000.000, d'autres approchent ou même dépassent 7.000.000. Les chiffres absolus trouvés ne correspondent plus à l'importance du phénomène observé.

Ajoutons que tous les animaux sont laissés pendant toute l'expérience au régime sans verdure car nous avons constaté dans une autre série d'expériences l'action indéniable de la chlorophylle comme hémopoïétique.

Nous ne reproduisons ici que les expériences réalisées après la mise au point de notre méthode de comparaison, passant sous silence une fastidieuse expérimentation de perfectionnement.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE PROTÉOLYSAT GLOBULAIRE IRRADIÉ ASSOCIÉ OU NON AUX CASÉINATES DE FER ET DE CUIVRE.

SÉRIE I

EXPÉRIENCES RÉALISÉES AVEC LE PROTÉOLYSAT GLOBULAIRE IRRADIÉ LIQUIDE SANS CASEÏNATES

Les anémies furent réalisées par saignées au niveau de la veine fémorale, suivies d'injection de sérum hypotonique.

Les animaux traités reçurent quotidiennement par la bouche, 1 centimètre cube d'une solution glycinée contenant du lysat globulaire irradié correspondant à 25 milligrammes de produit sec.

L'administration du produit fut faite à la pipette de manière à assurer à coup sûr son absorption.

Les 2 lots furent laissés au régime normal sans verdure. — Durée du traitement : 7 jours.

Voici les résultats obtenus :

	Poids	G. R. avant saignée	G. R. après saignée	G. R. en fin d'expé- rience
	kg.			
Témoins n° 51.	2,450	4.330.000	2.620.000	3.200.000
» 52.	2,850	4.375.000	1.890.000	2.080.000
» 53.	2,480	5.840.000	2.750.000	2.850.000
» 55.	2,350	4.080.000	2.700.000	2.700.000
» 56.	2,100	5.360.000	2.525.000	3.350.000
Traités n° 57.	2,290	5.790.000	2.590.000	3.750.000
» 58.	2,300	4.680.000	2.750.000	4.125.000
» 59.	2,350	6.680.000	4.050.000	5.350.000
» 61.	2,900	5.080.000	4.140.000	5.630.000
» 63.	2.000	4.125.000	3.250.000	4.080.000

RÉSUMÉ DE L'ESSAI

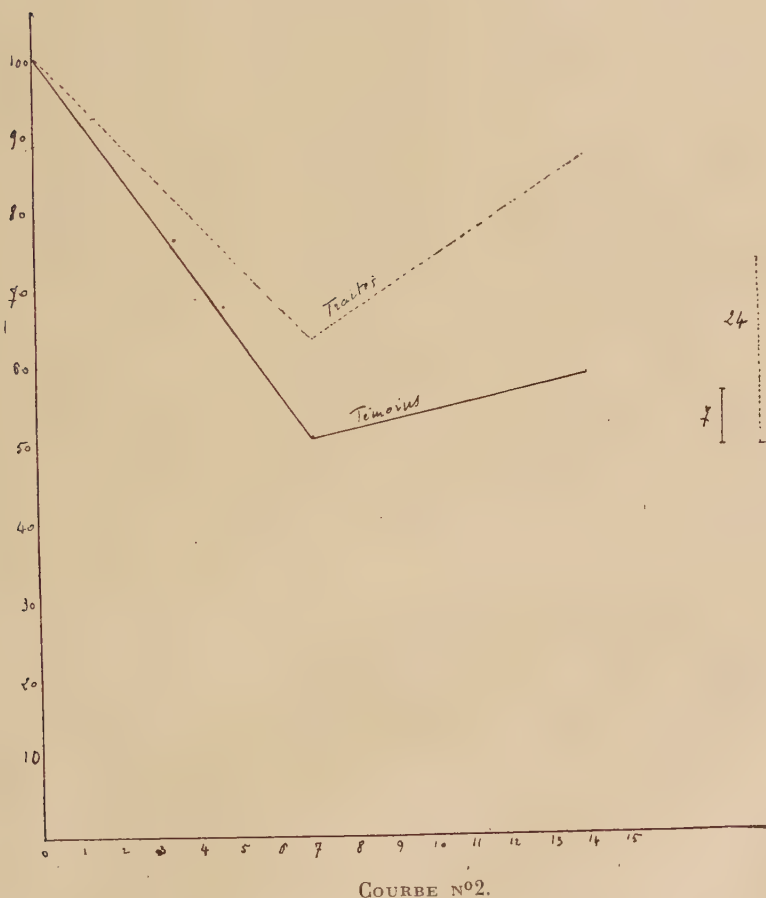
	Témoins	Traités
Moyenne des G. R. avant saignée	4.770.000 (100)	5.271.000 (100)
Moyenne des G. R. après saignée	2.497.000 (52)	3.356.000 (63)
Moyenne des G. R. en fin d'expérience.....	2.836.000 (59)	4.587.000 (87)
Moyenne des réparations en chiffres absolus	339.000	1.231.000

Conclusions : régénération globulaire spontanée des témoins : 7 % du taux initial, régénération globulaire des animaux traités : 24 % du taux initial.

La régénération globulaire qui peut être légitime-

ment attribuée à l'action de la médication utilisée ressort donc à 17 % (24 — 7).

A noter que le taux d'anémie des animaux traités



était moindre que celui des témoins et que par conséquent la régénération spontanée était moins sensible dans le lot traité que dans le lot témoin (Courbe n° 2).

SÉRIE II

EXPÉRIENCE RÉALISÉE AVEC LE PROTÉOLYSAT GLOBULAIRE IRRADIÉ DESSÉCHÉ ASSOCIÉ AUX CASÉINATES DE FER ET DE CUIVRE.

Les anémies furent réalisées par saignées au niveau de la veine fémorale, suivies d'injection de sérum hypotonique.

Les animaux traités reçurent quotidiennement :

Protéolysat globulaire obtenu par photoclasé	0 gr. 025
Inosito hexophosphate de chaux et de magnésie.....	0 gr. 030
Caséinate de fer	0 gr. 002
Caséinate de cuivre	0 gr. 0002
Caséinate de manganèse	0 gr. 001

Le mélange était réalisé sous forme de pilules qui étaient introduites directement dans la bouche des animaux de manière que l'absorption fut réalisée à coup sûr.

Les 2 lots au régime normal sans verdure.

Durée du traitement : 7 jours.

Voici les résultats obtenus :

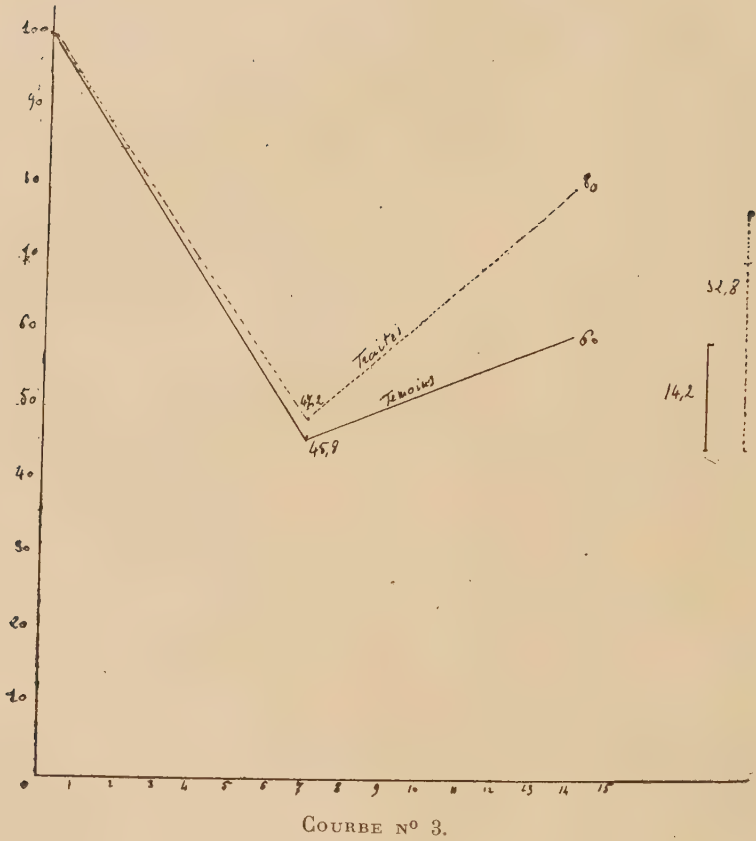
	Poids	G. R. avant saignée	G. R. après saignée	G. R. en fin d'expé- rience
	kg.			
Témoins n° 31	2.160	6.310.000	2.850.000	3.500.000
» 33	1.960	6.160.000	2.920.000	3.830.000
» 34	2.140	6.040.000	2.720.000	4.020.000
Traités n° 36.....	2.210	6.220.000	3.130.000	5.170.000
» 37.....	2.030	5.960.000	2.920.000	4.980.000
» 38.....	2.050	6.180.000	2.640.000	4.500.000

RÉSUMÉ DE L'ESSAI

	Témoins	Traités
Moyenne des G. R. avant sai- gnée	6.170.000 (100)	6.120.000 (100)
Moyenne des G. R. après sai- gnée	2.830.000 (45,8)	2.890.000 (47,2)
Moyenne des G. R. en fin d'ex- périence.....	3.780.000 (60)	4.885.000 (80)
Moyenne des réparations en chiffres absolus	950.000	1.995.000

Conclusion : régénération globulaire spontanée des témoins : 14, 2 % du taux initial.

Régénération globulaire des animaux traités : 32,8 % du taux initial. La régénération globulaire qui peut être légitimement attribuée à l'action de la



médication employée ressort donc à 18,6 % (Courbe n° 3).

SÉRIE III

COMPARAISON EXPÉRIMENTALE ENTRE L'ACTION HÉMOPOIÉTIQUE DU LYSAT GLOBULAIRE IRRADIÉ EN SOLUTION ET ASSOCIÉ AU SULFATE DE CUIVRE ET LE LYSAT GLOBULAIRE IRRADIÉ DESSÉCHÉ ASSOCIÉ AUX CASÉINATES DE CUIVRE ET DE FER.

Les anémies furent réalisées par saignées au niveau de la veine fémorale, suivies d'une injection de sérum hypotonique.

Le lot n° 1 reçut par la bouche à la pipette une solution glycinée contenant 25 milligrammes de lysat globulaire irradié et 1/50^e de milligramme de cuivre métallique sous forme de sulfate de cuivre.

Le lot n° 2 reçut chaque jour une pilule correspondant à la formule suivante d'ailleurs identique à celle de l'essai précédent :

Protéolysat globulaire obtenu par photoclastase	0 gr. 025
Inosito hexophosphate de chaux et de magnésie.....	0 gr. 030
Caséinate de fer	0 gr. 002
Caséinate de cuivre	0 gr. 0002
Caséinate de manganèse	0 gr. 001

Les 2 lots laissés au régime normal sans verdure.

Durée du traitement : 7 jours :

Voici les résultats obtenus :

	Poids	G. R. avant saignée	G. R. après saignée	G. R. en fin d'expé- rience
	gr.			
Solution n° 71	2.180	5.000.000	1.950.000	3.300.000
» 72	2.220	4.620.000	2.320.000	2.875.000
Extrait sec 75.....	2.890	5.730.000	2.200.000	3.500.000
» 76.....	2.180	6.500.000	2.200.000	4.250.000

RÉSUMÉ DE L'ESSAI

	Solution	Extrait sec
Moyenne des G. R. avant saignée	4.810.000 (100)	6.115.000 (100)
Moyenne des G. R. après saignée	2.135.000 (44)	2.200.000 (35,7)
Moyenne des G. R. en fin d'expérience.....	3.088.000 (64,2)	3.875.000 (63)
Moyenne des réparations en chiffres absolus	953.000	1.675.000

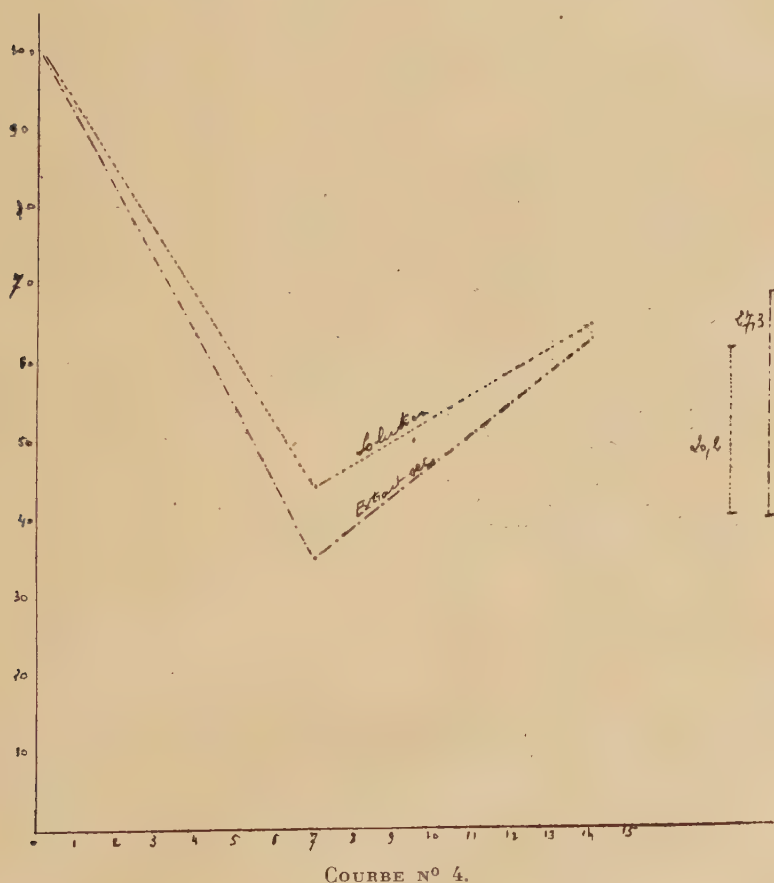
Conclusion : régénération globulaire du lot traité par la solution d'extrait globulaire irradié associé au sulfate de cuivre : 20,2 %.

Régénération globulaire du lot traité par l'extrait globulaire irradié associé aux caséinates de cuivre et de fer : 27,3 %.

Cet essai avait pour but de se rendre compte de la différence d'activité entre la solution et l'extrait desséché d'une part et entre un sel de cuivre et une

préparation organique (caséinate) de cuivre, d'autre part.

Vu la différence initiale entre les chiffres des glo-



bules rouges des 2 lots, il est possible de conclure que l'activité des 2 produits est presque identique (Courbe n° 4).

SÉRIE IV

ACTION PRÉVENTIVE DE L'EXTRAIT GLOBULAIRE IRRADIÉ ASSOCIÉ AUX CASÉINATES DE FER ET DE CUIVRE SUR L'HÉMOLYSE PAR PHENYLHYDRAZINE.

Les animaux du lot n° 1 reçurent préventivement pendant 4 jours une pilule correspondant à la formule suivante :

Protéolysat globulaire obtenu par photoclaste	0 gr. 025
Inosito hexophosphate de chaux et de magnésie.....	0 gr. 030
Caséinate de fer	0 gr. 002
Caséinate de cuivre	0 gr. 0002
Caséinate de manganèse	0 gr. 001

Pendant le même temps les animaux témoins ne reçurent aucun traitement.

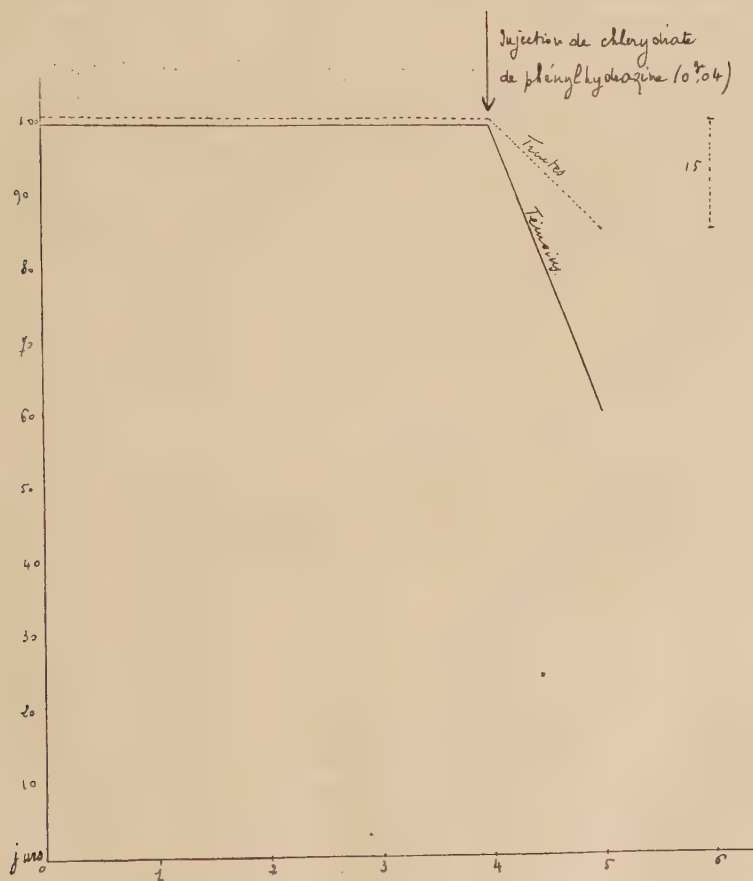
Le 4^e jour les 2 lots reçurent une injection intraveineuse de 4 centigrammes de chlorhydrate de phénylhydrazine par animal.

Le lendemain de l'injection des numérations sont pratiquées à nouveau.

Pendant la durée de l'essai les animaux furent laissés au régime normal sans verdure.

Voici les résultats obtenus :

	G. R. avant l'injection	G. R. après l'injection	Différences
Témoins n° 82	3.400.000	2.270.000	1.130.000
» 83	5.000.000	2.750.000	2.250.000
Traités n° 84.....	4.600.000	3.825.000	775.000
» 85.....	4.800.000	4.150.000	650.000



COURBE N° 5.

RÉSUMÉ DE L'ESSAI

	Témoins	Traités
Moyenne des G. R. avant injection	4.200.000 (100)	4.700.000 (100)
Moyenne des G. R. après injection	2.510.000 (60)	3.990.000 (85)
Moyenne de la baisse en chiffres absolus	1.690.000	710.000

Conclusion : L'administration préventive par la bouche d'une petite dose d'extrait globulaire irradié associé aux caséïnes de fer et de cuivre provoque une résistance assez forte à l'action hémolytique de la phénylhydrazine puisque la baisse du taux globulaire provoquée n'est que de 15 % alors qu'elle est de 40 % chez les animaux non traités (Courbe n° 5).

ESSAIS CLINIQUES RÉALISÉS AVEC LE PROTÉOLYSAT GLOBULAIRE IRRADIÉ

Ces essais furent réalisés en partie en clientèle privée, en partie à l'Institut d'Electro-Radiologie de la Ville de Paris, les numérations furent, dans cette seconde série, exécutés dans le laboratoire de cet établissement.

Nous avons éliminé des chiffres rapportés ici, un certain nombre de sujets (enfants et adultes) qui nous avaient paru, d'après leur habitus extérieur (couleur de la peau et des muqueuses), anémiques et dont la numération initiale avait révélé un taux globulaire sub-normal. Ceux de ces sujets que nous avons néanmoins traités n'ont retiré que peu de bénéfices de la médication. Par contre ceux qui étaient franchement anémiques et qui n'ont été atteints d'aucune affection intercurrente ont montré au contraire des améliorations parfois surprenantes et obtenues le plus souvent en huit jours.

Nous livrons ces chiffres tels qu'ils nous ont été communiqués par les différents laboratoires qui ont effectué les numérations. La plupart des confrères

qui ont été ainsi appelés à suivre nos essais ne nous ont pas caché leur étonnement devant la perfection et la rapidité des résultats obtenus dans la grande majorité des cas traités.

N ^o	Age		Gain
J. G.) 1	6	23/1/33 — 3.420.000 30/1/33 — 5.800.000	1.380.000
M.) 2	2	9/2/33 — 4.336.000 16/2/33 — 5.384.000	1.048.000
F.) 3	10 1/2	16/2/33 — 4.040.000 23/2/33 — 4.692.000	652.000
D.) 4	17 mois	18/2/33 — 2.912.000 25/2/33 — 4.336.000	1.424.000
B.) 5	8 ans	9/2/33 — 3.812.000 16/2/33 — 5.496.000	1.684.000
D.) 6	10 ans	3/3/33 — 4.124.000 7/10/33 — 4.800.000	676.000
K.) 7	2 ans	3/3/33 — 4.016.000 10/3/33 — 4.468.000	452.000
R.) 8	6 ans	3/3/33 — 3.432.000 10/3/33 — 4.300.000	868.000
L.) 9	6 ans	3/3/33 — 3.860.000 10/3/33 — 4.376.000	516.000
G.) 10	11 1/2	6/3/33 — 3.820.000 13/3/33 — 5.460.000	1.640.000
L.) 11	10	6/3/33 — 4.330.000 13/3/33 — 5.020.000	690.000
G.) 12	41	6/3/33 — 2.740.000 13/3/33 — 4.480.000	1.740.000
M.) 13	8	11/5/34 — 3.575.000 18/5/34 — 4.250.000	675.000
C.) 14	10	11/5/34 — 3.510.000 18/5/34 — 3.790.000	280.000

Dans l'ensemble les améliorations observées furent extrêmement satisfaisantes ; certains malades

avaient déjà été traités sans succès par les médications anti-anémiques classiques.

Les essais furent réalisés soit avec la solution, soit avec des granulés.

Voici les formules des produits utilisés :

Ampoules de 5 cc.

Protéolysat globulaire irradié correspondant à 5 gr. de globules rouges.	
Cuivre métallique (sous forme de sulfate de cuivre cristallisé)	0 gr. 001
Eau distillée.....	} àà Q. S. p. 5 cc.
Glycérine.....	

La dose était de 2 ampoules par jour.

Granulé

Protéolysat globulaire irradié obtenu par photoclasé ..	50 gr.
Inosito hexophosphate de chaux et de magnésie.....	75 gr.
Caséinate de fer	5 gr.
Caséinate de cuivre	0 gr. 50
Caséinate de manganèse	2 gr.
Sucre Q. S. p.	1.000 gr.

La dose était de 2 cuillerées à café par jour.

L'une et l'autre médication se sont révélées également efficaces. Notons toutefois que malgré la dose extrêmement réduite de cuivre, les ampoules ont parfois donné lieu à des phénomènes nauséux chez certains malades sensibles alors que le caséinate de cuivre en granulé n'a jamais donné lieu à aucun inconvénient de cet ordre.

Il nous semble donc que le protéolysat globulaire irradié associé aux caséïates de fer et de cuivre constitue une des médications hémopoïétiques les plus énergiques que nous possédions. C'est à ce titre qu'il nous a paru intéressant de rapporter ici les résultats de nos expérimentations.

CONCLUSIONS

I. — La thérapeutique des anémies a accompli des progrès remarquables depuis l'apparition des médications biologiques à extrait hémopoïétique : foie de veau, muqueuse gastrique, acides aminés.

II. — Les expériences de SEYDERHELM ont montré que l'irradiation par les rayons ultra-violets du sang circulant avait une action préventive et curative vis-à-vis de l'anémie hémolytique déterminée par l'injection de saponine.

Ces propriétés préventives et curatives contre l'anémie saponinique peuvent être transmises à un autre animal par l'injection de sang ayant subi une irradiation par les rayons ultra-violets.

III. — La substance antianémique mise en évidence existe normalement dans les globules rouges des mammifères mais en quantité infime. L'irradiation par les rayons ultra-violets détermine l'apparition

rition, dans les hématies d'une quantité très notable de ce produit à propriétés hémopoïétiques.

IV. — Nous avons pu réaliser, par protéolyse poussée un extrait totalement désalbuminé qui, soumis à l'action des radiations ultra-violettes, acquiert des propriétés anti-anémiques remarquables et s'est révélé actif « per os ».

V. — L'irradiation ultra-violette intense semble agir à la manière d'un ferment, selon le processus bien mis en évidence par D. BERTHELOT et pousser le fractionnement de la molécule albuminoïde des hématies (globine) jusqu'au stade acides-aminés.

Le produit anti-anémique s'apparente pour nous, aux acides aminés hématogènes dont l'activité anti-anémique a été révélée par les travaux de FONTES et THIVOLLE.

VI. — L'hématopoïèse ne peut se produire que si les réserves de fer de l'organisme sont suffisantes ou si un apport en fer assimilable est assuré.

Le fer, pour être assimilable, doit être facilement ionisable. La combinaison chimique qui permet le mieux de dissimuler le fer tout en permettant une ionisation facile dans l'estomac est le caséinate de fer, corps déjà expérimenté par FONTES et THIVOLLE.

VII. — Le rôle indéniable du cuivre comme hémopoïétique ne peut également s'exercer que si ce métal

est assimilé, donc s'il est absorbé sous une forme ionisable. Nous avons adopté le caséinate de cuivre pour les mêmes raisons qui nous avaient fait choisir le caséinate de fer.

VIII. — L'association de l'extrait globulaire irradié au caséinate de fer et au caséinate de cuivre s'est révélée comme un agent hémopoïétique extrêmement actif.

Nos expériences biologiques et nos résultats cliniques le démontrent pleinement.

IX. — Nous avons mis au point pour l'étude expérimentale une technique d'anémie par saignée au niveau de la veine fémorale qui nous a permis des expériences toujours comparables entre elles. Cette anémie et la façon d'interpréter les résultats écarte la plupart des causes d'erreur habituellement liées à ce genre d'expériences.

Le test utilisé était le nombre des hématies.

X. — Les résultats expérimentaux ont montré que le produit, administré « per os » à des lapins adultes, anémiés par saignées à 50 % du taux primitif des hématies, relevait en 7 jours le nombre des globules rouges d'au moins 20 % par rapport au taux primitif.

XI. — Les essais cliniques ont été également très

concluants et ont montré une guérison extrêmement rapide des anémies grandes et moyennes.

XII. — L'association de l'extrait globulaire (peptones pancréatiques d'hématies) irradié associé aux caséïnates de fer et de cuivre réalise une des médications hémopoïétiques les plus efficaces dont dispose l'arsenal thérapeutique moderne.

VU :

Le Président de la Thèse,

TANON.

VU :

Le Doyen,

G. ROUSSY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLÉTY

BIBLIOGRAPHIE

- E. ARON. — Les acides aminés dans le traitement des anémies (*Gazette Médicale de France*, 15 octobre 1934).
- BARKAN. — La teneur en cuivre et en fer du sang contenant de l'hémocyanine et facilité avec laquelle le cuivre se sépare de l'hémocyanine.
- J. BENCE. — Role of copper in formation of blood, its action in increasing protency of iron in anemia (*Zeitschr. f. Klin. med.*, 1933, p. 143).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Principaux types de photolyse des composés organiques par les rayons ultra-violetts (*C. R. Ac. Sc.*, 1910, p. 1349).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Photolyse des acides à fonctions complexes par les rayons ultra-violetts (*C. R. A. Sc.*, 1911, p. 262).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Action comparée des rayons ultra-violetts sur les composés organiques à structure linéaire et à structure cyclique. Étude des sels minéraux en solution aqueuse (*C. R. Ac. Sc.*, 1911, p. 376).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — La nitrification par les rayons ultra-violetts (*C. R. Ac. Sc.*, 1911, p. 552).
- BERTHELOT et GAUCHERON. — Sur la photolyse des alcools, des anhydrides d'acides, des éthers-oxydes et des éthers-sels par les rayons ultra-violetts (*C. R. Ac. Sc.*, 1911, p. 383).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Sur le rôle de la longueur d'onde dans les réactions photo-chimiques. Analogie de la photo-chimie des hautes fréquences vibratoires avec la chimie des hautes températures (*C. R. Ac. Sc.*, 1912, p. 1597).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Sur la longueur d'onde des radia-

- tions actives dans la synthèse photochimique des composés témoins (*C. R. Ac. Sc.*, 1912, p. 1.803).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Sur les radiations efficaces dans la synthèse photochimique des composés quaternaires, dans la polymérisation de divers gaz et dans la photolyse de l'acétone (*C. R. Ac. Sc.*, 1912, p. 207).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Sur les divers modes de photolyse de l'acide oxalique par les rayons ultra-violet (C. R. Ac. Sc., 1915, p. 441).
- BERTHELOT et GAUCECHON. — Cinétique des réactions photochimiques (*C. R. Ac. Sc.*, 1915, p. 519).
- BERTHELOT. — Les effets chimiques des rayons ultra-violet (*Revue Générale des Sciences*, 30 avril 1911).
- BERTHELOT. — Les rayons ultra-violet et leurs applications pratiques (*Mémoires de la Société des Ingénieurs Civils de France*, décembre 1911).
- BERTHELOT. — Les rayons ultra-violet et leurs récentes applications chimiques et biologiques (*Mémoires de la Société des Ingénieurs Civils de France*, décembre 1913).
- BERTHELOT. — Sur les actions photo-chimiques des rayons ultra-violet (*Bulletin de la Société Française de Physique*, 1^{er} mars 1912).
- BERTHELOT. — Les rayons ultra-violet et le rôle de la lumière dans les échanges de matière entre animaux et végétaux (*Ac. Méd.*, séance du 11 juin 1912).
- BERTHELOT. — Interprétation dynamique du rôle des ferments fondée sur l'analogie de leurs actions chimiques avec celle de la lumière (*Ac. Méd.*, séance du 24 décembre 1912).
- BERTHELOT. — Sur le rôle de la longueur d'onde dans les actions biologiques de la lumière. (*Ac. Méd.*, 11 novembre 1913).
- BERTHOUD. — *Photochimie* (1 vol., Doin, éditeur, 1928).
- G. W. CALDWELL et R. H. DENNETT. — Use of copper an iron in 100 cases of secondary anemia in children (*M. J. et Rec.* 135 : 286.288, 16 mars 1932).
- L. CERZA. — Sur l'efficacité thérapeutique du cuivre dans les anémies de l'enfance (*La Pédiatrie*, n° 2, 10 février 1933).
- P. CHEVALLIER. — Les médications chimiques des anémies (*Monde médical*, n° 829, juin 1933).

- P. CHEVALLIER, A. SEVAUX. — Quelques acquisitions nouvelles dans la thérapeutique des anémies. Le chlorophylle et le cuivre (*Monde médical*, n° 845, 1^{er} mai 1934).
- CURRADO. — Le cuivre dans le sang des enfants (*La Pédiatrie*, n° 1, janvier 1933).
- ELVEHJEM. — Significance of copper and iron in blood restoration (*Am. J. Pub. Health*, décembre 1933).
- ELVEHJEM. — Action of copper in iron metabolism (*J. Biol. chem.*, 987, juillet 1932).
- ELVEHJEM et W. C. SHERMAN. — Action of copper in iron metabolism (*J. Biol. chem.*, 98, octobre 1932).
- ELVEHJEM, STENBOCK et HART. — L'effet du régime sur la teneur en cuivre du lait (*Journ. of Biol. chem.*, 1929, n° 83, p. 27-34).
- ELVEHJEM, STENBOCK et HART. — Le cuivre est-il un constituant de la molécule d'hémoglobine ? (*Journ. of Biol. chem.*, 1929, n° 83, p. 21-25).
- FONTES et THIVOLLE. — Recherches expérimentales sur la thérapeutique de l'anémie grave par carence martiale et notamment par hémorragies. Action du caséinate de fer ajouté au caséinate de cuivre (*Le sang*, n° 4, 1933).
- FONTES et THIVOLLE. — Action du tryptophane et de l'histidine seuls, associés au caséinate de fer et associés aux caséinates de fer et de cuivre (*Le sang*, n° 5, 1933).
- GORTER. — Cuivre et anémie (*Med. Journ. of Di. Child.*, novembre 1933).
- GORTER, GRENDEL et WEYERS. — Le rôle du cuivre dans l'anémie infantile (*Revue française de Pédiatrie*, n° 6, 1921).
- GUILLEMET. — Variation de la distribution du cuivre entre les globules, le sérum et le plasma, influence de la saignée et de l'injection du cuivre (*C. R. Biologie*, 3 octobre 1932).
- GUILLEMET. — Contenu en cuivre du foie et de la rate du chien influence de la saignée et de l'injection du cuivre (*C. R. Biologie*, décembre 1932).
- GUILLEMET. — Méthode de dosage de quelques centièmes de milligramme de cuivre. Application au sang, à l'hémoglobine et à divers autres tissus animaux (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1932, 14).
- GUILLEMET et GOSSELIN. — Sur la présence du cuivre dans l'hé-

- moglobine cristallisée de porc et de cheval (*C. R. Soc. Biol.*, 3 octobre 1932).
- HANDOWSKY. — Le traitement des anémies par le cuivre : nouvelles méthodes de comparaison quantitative des médicaments antianémiques et nouvelles préparations des protéines cuivriques (*Klinische Wochenschrift*, n° 23, 4 juin 1932).
- HARGUE, HEALY et HILL. — Relations entre le cuivre et la teneur en hémoglobine du sang du rat (*Journ. of Biol. Chem.*, 1928, n° 78, p. 637-641).
- JOSEPHS. — Traitement de l'anémie infantile par le fer et le cuivre (*Hopkins hosp., Bull.*, 1931, p. 246-269).
- KARP. — Parallélisme entre la proportion de cuivre et celle de vitamines dans le tissu vivant (*Zeitschrift f. d. ges. exper. méd.*, 1933, p. 765).
- KELL et NELSON. — Rôle du cuivre dans la régénération de l'hémoglobine et dans la reproduction (*Journ. of Biol. chem.*, 1931, p. 49, 83).
- KLETZIEN, BUCHWALD et HUDSON. — Cuivre et fer (*C. R. Soc. Exp. Biol. et méd.*, février 1933).
- LANE. — Importance de la proportion de cuivre et de fer dans la ration alimentaire (*An. J. Phys. Thérapy.*, juin 1933).
- LINDOW, ELVEHJEM et PETERSON. — La teneur en cuivre des substances alimentaires animales et végétales (*J. of Biol. Chem.*, 1929, n° 82).
- LINDOW, PETERSON et STEENBOLK. — Le métabolisme du cuivre chez le rat (*Journ. of Biol. chem.*, 1929, n° 84).
- MACKAY. — Copper in treatment of nutritional anemia in infancy (*Arch. Dis. Childhood*, 8 avril 1933).
- MENIUS. — Zur Kupferbehandlung der Anemie (*Deut. Med. Woch.*, 29, 21 juillet 1933).
- MERKLEM et ISRAEL. — Sur le mécanisme d'action des traitements antianémiques (*Progrès méd.*, n° 49, 6 décembre 1933).
- MERKLEM et FONTES. — Recherches expérimentales sur la thérapeutique de l'anémie grave par carence martiale et notamment par hémorragies. Anémie grave chez un vagabond. Amélioration par réalimentation normale. guérison stable par injection de caséinate de fer et de caséinate de cuivre (*Le sang*, n° 5, 1933).

- MEYER et EGGERT. — Fer et cuivre dans le foie et les extraits de foie (*Journ. of Biol. chem.*, n° 99, décembre 1932).
- MYERS et BEARD. — L'influence des éléments inorganiques sur la régénération sanguine dans l'anémie expérimentale d'origine diététique (*Journ. of the Med. Assoc.*, n° 16, octobre 1929).
- MUNTWYLER et HANZAL. — Action du cuivre et d'autres éléments sur le métabolisme du fer (*C. R. Sc. exp. Biol. et méd.*, avril 1933).
- J. NENBURGER. — Die Behandlung der Anemie mit Eisenkupfer (*Fred. Welt*, 1655, 12 novembre 1932).
- RAVINA. — Contributions nouvelles à la thérapeutique des anémies (*Presse médicale*, n° 68, 24 août 1932).
- REDMANN. — Le traitement des anémies secondaires des nourrissons et des petits enfants (*Munch und Wochenschrift*, n° 22, mai 1932).
- ROBSHEIT, ROBBINS et WHIPPLE. — Régénération du sang dans l'anémie grave XVII. Influence du manganèse, du zinc, du cuivre, de l'aluminium, de l'iode et des phosphates (*N. Journ. of Phy.*, 1930, n° 92).
- SASSARD. — Le syndrome anémique, ses modalités cliniques et ses traitements (*Thèse Lyon*, 1932).
- SHULTZE et ELVEHJEM. — Relation of iron an copper to reticulocyte response in anemie rats (*J. Biol. chem.*, 102, 357, 371, octobre 1933).
- SEYDERHELM. — Un produit à action antianémique, activé par les rayons ultra-violets, existant dans le sang (*Klinische Wochenschrift*, 2 avril 1932).
- SCHWARTZ et WEUBERG. — Sur la connaissance des actions biochimiques de la lumière (*Berl. Klin. Wochenschrift*, 1917, n° 4).
- SCHWARTZ et WEUBERG. — Transformations chimiques provoquées sur les radiations (*Biochem. Zeitschrift*, n° 27, 1913).
- STEIN et R. C. LEWIS. — Stimulating action of copper on erythropoïètes (*J. Nutrition*, p. 465-472, septembre 1933).
- WADDEL, ELVEHJEM, STEEBNOCK et HARDT. — Sels de fer et extraits de cuivre contenant du fer dans le traitement de l'anémie (*Journ. of Biol. Chem.*, 1928, n° 77, p. 777-795).
- WADDEL, STEENBOCK et HARDT. — La spécificité du cuivre

ajouté au fer dans le traitement de l'anémie de nutrition (*Jour. of Biol.*, 1931, n° 84, p. 115-129).

WAGNER. — La lampe de quartz (soleil d'altitude artificiel) en médecine (Un volume, Graz, 1916).

WIPPLE, ROBSCHT, ROBBINS, ELLEN et SPERRY. — Régénération du sang au cours d'une anémie expérimentale sévère. Influence des éléments inorganiques (*Prof. of Soc. Expér. Biol. and med.*, 1928, n° 25).

ZONDEK et BANDMANN. — Les métaux lourds dans les cellules (*Deutsche und Wochenschrift*, n° 3, 20 janvier 1933).

Saint-Amand (Cher). — Imprimerie R. BUSSIÈRE. — 21-1-1935.
